

学位授与番号	甲第 1623 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
氏 名	玉 井 光 男
学位論文題目	Conjugated Bilirubin Induces Multidrug Resistance-associated Protein 2 mRNA Expression and In Vivo Cisplatin Resistance in Rat Hepatoma AH66 Cells (直接ビリルビンはラット肝癌 AH66 細胞において MRP2 mRNA 発現と in vivo シスプラチン耐性を誘導する)
論文審査委員	主 査 教 授 佐 藤 博 副 査 教 授 中 沼 安 二 教 授 佐々木 琢 磨

内容の要旨及び審査の結果の要旨

消化器癌、肝癌、胆管癌、非小細胞肺癌、腎癌、中枢神経腫瘍などでは、化学療法に対する奏効率が極めて低く、この原因の一つに抗癌剤耐性が考えられる。本研究ではラット腹水肝癌 (AH) 由来の AH66 細胞の *in vivo* シスプラチン耐性誘導因子の探索を試み、以下の結果を得た。

腹水により誘導される AH66 細胞のシスプラチン耐性は、*in vitro*、*in vivo* において multidrug resistance-associated protein (MRP) ファミリーを含む有機アニオントランスポーターの阻害剤であるプロベネシドによって抑制された。AH66 細胞への腹水の添加は MRP ファミリーの内、canalicular multispecific 有機アニオントランスポーターである MRP2 のみを誘導することから、*in vivo* シスプラチン耐性は宿主内において癌細胞に MRP2 が高発現しているためと考えられた。MRP2 発現誘導が担癌動物の腹水に特有であることを確かめるために、担癌ラット腹水、正常ラット胆汁などによる MRP2 mRNA の発現誘導を検討したところ、担癌ラット腹水および胆汁によって MRP2 mRNA の発現が強く誘導された。また、腹水、担癌ラット血清中に含まれる胆汁酸および抱合、非抱合型ビリルビン濃度を測定したところ、胆汁酸濃度は腹水中で特に高値ではなく、抱合および非抱合型ビリルビン濃度が腹水で高値であった。そこで、抱合あるいは非抱合型ビリルビンによる AH66 細胞の MRP2 mRNA の発現への影響を検討した結果、抱合型ビリルビンによってのみ明らかな MRP2 mRNA 発現の増加が観察された。さらに、抱合型ビリルビンを処置した AH66 細胞では、細胞内シスプラチン量の低下が観察され、シスプラチンに対する感受性も低下した。一方、ラット正常肝臓からの遊離肝細胞は牛胎児血清下の培養により MRP2 mRNA 発現量は経時的に減少したが、抱合型ビリルビンあるいは胆汁を処置したところ、MRP2 mRNA の発現が誘導された。

以上、AH66 細胞における *in vivo* シスプラチン耐性は、腹水中に含まれる抱合型ビリルビンによって MRP2 が誘導され、細胞内シスプラチンの排泄が亢進して引き起こされることが明らかとなった。

また、抱合型ビリルビンによる MRP2 の発現誘導は、正常肝細胞においても観察されたことから、AH66 細胞に特有な反応ではなく、他の癌細胞でも十分起こり得る現象であることが示唆された。今日、抗癌剤選択の 1 つとして摘出癌細胞を用いた *in vitro* 感受性試験が行われているが、*in vivo* 耐性はこのような試験によっては解決できない問題である。本研究の結果は、より効果的な癌化学療法を行う上で重要な示唆を与えるものであり学位に値すると評価された。